

1959

Gerhard F. Goossens



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554419_0095

Aus der Hautklinik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Direktor: Professor Dr. E. Keining

DER DIPHENYLAMINTEST IM SERUM

BEI HAUTERKRANKUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

vorgelegt von
GERHARD F. GOOSSENS

Mainz

1959



Referent: Privatdozent Dr. med. O. Braun-Falco

Correferent: Professor Dr. med. E. Keining

Dekan: Professor Dr. med. H. Leicher

Tag der mündlichen Prüfung: 3. 12. 59

Datum des Diploms - 3. DEZ. 1959

I N H A L T

- I. EINLEITUNG
- II. DIE ENTWICKLUNG DES DIPHENYLAMIN - TESTES
 - 1) Zusammensetzung des Dische-Reagenzes und seine Reaktionsbedingungen
 - 2) Methoden zur Ermittlung der vermehrt auftretenden farbgebenden Substanz.
 - a) nach Niazi und State
 - b) nach Ayala, Moore und Hess
- III. DIE EIWEISSGEBUNDENEN, FARBGEBENDEN KOHLEHYDRATKOMPLEXE
 - 1) Kohlehydratreiche Eiweiße
 - a) Definition
 - b) Einteilung
 - c) Darstellungsmethode eines Glykoproteins (Mucoprotein)
 - d) Natur und Bestandteile dieser schwer fällbaren Fraktionen, soweit sie erforscht sind.
 - 2) Mucopolysaccharide
 - a) die sauren Mucopolysaccharide
 - b) die neutralen Mucopolysaccharide
 - c) vermehrt auftretende Mucopolysaccharide
 - d) die Verteilung der Mucopolysaccharidanhäufungen unter pathologischen Bedingungen auf die einzelnen Fraktionen
 - e) die Auswirkung auf die Hitzekoagulationsschwelle des Serums
 - f) Beziehungen der vermehrten Mucopolysaccharide zur Blut-senkung
 - g) Annahmen über die Herkunft der vermehrt auftretenden Mucopolysaccharide
 - 3) Aminozuckerkomplexe (Neuraminsäuren)
 - a) Darstellung
 - b) Vorkommen und Bedeutung

IV. ERGEBNISSE DES DPA - TESTES BEI INTERNEN ERKRANKUNGEN UND CARCINOMEN

- 1) bei Carcinomen und internen Erkrankungen
- 2) bei leukämischen Erkrankungen
- 3) bei rheumatischen Erkrankungen

V. DER DIPHENYLAMINTEST BEI DERMATOLESEN

- 1) technische Probleme
- 2) eigene Untersuchungsergebnisse im Vergleich zum Verhalten der proteingebundenen Kohlehydrate im Serum bei Dermatosen

VI. DISKUSSION

VII. ZUSAMMENFASSUNG

I. EINLEITUNG

Bei einer Reihe von Krankheitsprozessen, die mit Gewebszerstörungen einhergehen, wie etwa bei Carcinomen oder ausgedehnten entzündlichen Prozessen, findet sich eine auffallende Vermehrung der eiweißgebundenen Kohlehydrate im Blutserum. Dieses Phänomen wurde erstmalig von E. Freund 1885 erwähnt. Er hydrolysierte Blutseren von Gesunden und von Patienten die an Carcinomen oder entzündlichen Erkrankungen litten. (1) Bei einer Hydrolyse des Blutserums werden Eiweißkörper gefällt und eiweißgebundene Kohlehydrate, die reduzierende Eigenschaften besitzen, freigesetzt. (2) Auf Grund des vergrößerten Reduktionsvermögens der Patientensern wies Freund eine Vermehrung der eiweißgebundenen Kohlehydrate nach. Zahlreiche Autoren versuchten, mit ähnlichen Methoden, einen brauchbaren Test zu entwickeln, um bei den verschiedensten Erkrankungen die Schwankungen der eiweißgebundenen Kohlehydrate zu erkennen und daraus Schlüsse zu ziehen. Die Ergebnisse, die man bei diesen Versuchen ermittelte, unterlagen erheblichen Ungenauigkeiten. Der Grund der Schwankungen lag daran, daß die zur Hydrolyse verwendeten starken Säuren die freigesetzten Kohlehydrate zum Teil zerstörten. Damit gingen auch ihre reduzierenden Eigenschaften verloren. (2) Diese Art der Untersuchung kam also als differentialdiagnostisches Hilfsmittel nicht in Frage. Brauchbarer erwiesen sich die Methoden, bei denen mit Hilfe einer Farbreaktion die an Proteine gebundenen Hexosen kolorimetrisch bestimmt werden konnten. Am geeignetsten erwies sich der 1929/1930 von Dische aufgestellte Diphenylamin-test, der, wenn auch in verbesserter Form, noch heute angewandt wird. Zahlreiche Untersuchungen wurden mit Hilfe dieses Testes vorgenommen. Die dabei erhaltenen Werte waren für Art und Schwere der untersuchten Erkrankungen spezifisch.

II. DIE ENTWICKLUNG DES DIPHENYLAMINTESTES

Dische (1) knüpfte an Experimente an, die in dieser Hinsicht schon verschiedentlich unternommen wurden. Rothenfusser (3) z. b. mischte zum Nachweis der Saccharose, einen Teil Saccharoselösung mit einem Teil Diphenylamin-reagenz. Er erhitzte die Mischung 10 Minuten lang.

Bestandteile dieses Reagenzes:

120 ccm konzentrierte Salzsäure,

60 ccm Eisessig,

20 ccm 5%ige alkoholische Diphenylaminlösung.

Dische (1) selbst erzielte mit folgender Zusammenstellung des Reagenzes maximale Farbwerte:

100 Teile konzentrierte Salzsäure,

80 Teile Eisessig,

20 Teile 10%ige DPA-Lösung.

Bei Aldosenlösungen erreichte man nach 30 Minuten Erhitzen mit dem betreffenden Reagenz ein Farbmaximum. Im Unterschied dazu wiesen Ketosenlösungen schon nach 3 Minuten Erhitzungsdauer eine genügend intensive Farbreaktion auf. Die Farbintensität der Lösungen zeigte sich im Konzentrationsbereich von 0,005% bis 0,05% der Zuckerkonzentration vollkommen proportional. Es war nun fraglich, inwieweit der Test zur Feststellung des Kohlehydratgehaltes von Plasma und Gewebsflüssigkeit geeignet war. Um den Einfluß der im Tierkörper vorkommenden organischen Substanzen auf die DPA - Reaktion zu prüfen, gab der Autor zu einer 0,0125%igen Glukoselösung eine aminosäurehaltige Lösung, die in ihrer Zusammensetzung einer Körperflüssigkeit entsprach und führte den Test aus. Die Differenz gegenüber reinen Zuckerlösungen lag noch innerhalb der Fehlergrenzen der colorimetrischen Ablesung. Arabinosephosphorsäure und Glukuronsäure übten in den Konzentrationen, wie sie im tierischen Körper vorkommen, keinen Einfluß auf die Reaktion aus. (2)

Bei Untersuchungen über die Natur der Kohlehydratkomponente der Thymonukleinsäure änderte Dische die Zusammensetzung des Reagenzes dahingehend, daß er die Salzsäure durch Schwefelsäure ersetzte und sie mit Eisessig und Diphenylamin direkt vermischte. Da Eisessig das wasserunlösliche Diphenylamin in Lösung hält, war eine alkoholische Lösung nicht mehr notwendig. Der Autor wählte die Schwefelsäurekonzentration je nach der Dauer des Erhitzens. Stellte sich das Farbmaximum schon nach einer Erhitzungsdauer von 3 Minuten ein, wie es bei Ketoselösungen der Fall ist, so betrug die Schwefelsäurekonzentration 5 - 10 %. Dagegen genügte eine 2,5%ige Schwefelsäurekonzentration, wenn die Erhitzungsdauer 30 Minuten betrug, wie es bei Aldoselösungen der Fall ist.

Konzentration des Diphenylamins (eine Konzentration von 0,5 - 1,5 g in 100 ccm gelöst liefert dieselben Ergebnisse), Schwefelsäurekonzentration und Erhitzungsdauer sind für die Intensität der Farbreaktion verantwortlich.

Es besteht die Möglichkeit, daß Salze schwacher Säuren, wie sie in Körperflüssigkeiten vorkommen, aufgrund ihrer puffernden Eigenschaften die Wirkung der Schwefelsäure und somit auch der Farbreaktion abschwächen. Dieses Problem wird durch eine entsprechend höhere Schwefelsäurekonzentration gelöst. (3)

2) Methoden zur Ermittlung der vermehrt auftretenden farbgebenden Substanz

a) Niazi und State führten 1948 Vergleichsuntersuchungen unter Anwendung des von Dische entwickelten Diphenylamintestes durch. Es wurden Seren von Carcinomkranken und Gesunden nebeneinander untersucht.

Sie entwickelten folgende Methode: (4)

2 ccm Serum werden von 4 ccm 20%iger Trichloressigsäurelösung gefällt.

Der Niederschlag des 15 Minuten lang zentrifugierten Hydrolysates wird mit 5 ccm 5%iger Trichloressigsäure versetzt, 15 Minuten in kochendem Wasser erhitzt, anschließend abgekühlt und 15 Minuten lang zentrifugiert. Man schüttet die klare, oben schwimmende Flüssigkeit ab und zentrifugiert den Rest noch einmal. 3 ccm dieser farblosen Endlösung werden mit 6 ccm DPA - Reagenz versetzt. Um einen Leerwert zum Vergleich zu bekommen, vermischt man auch noch 3 ccm 5%iger Trichloressigsäurelösung mit 6 ccm DPA - Reagenz.

Beide Zubereitungen kocht man 10 Minuten, um sie dann zu photometrieren, wobei der Leerwert als Nulleinstellung dient.

Die Autoren verwandten folgende Zusammensetzung des Reagenzes:

100 ccm Eisessig,

2,75 ccm konzentrierte Schwefelsäure,

1 g Diphenylamin (DPA).

b) Ayala, Moore und Hess vereinfachten die Methode dahingehend, indem sie das zu untersuchende Serum direkt mit 5%iger Trichloressigsäure hydrolysierten. (5)

Aus ihren Untersuchungen ergab sich, daß das mit 20%iger Trichloressigsäurelösung gefällte Serumfiltrat keine, die Farbreaktion störenden, Substanzen enthält. Die Autoren beobachteten, daß die Farbintensität beim Erhitzen bis zu 2 Stunden zunahm. Danach blieb die Farbe, ob weiter erhitzt wurde oder nicht, gleich. Übereinstimmend mit Dische wurde eine 1%ige DPA -

Lösung genommen. Dagegen änderte man die Schwefelsäurekonzentration des Reagenzes von 2,75 %, wie sie bisher angewendet wurde, auf 10 %, da durch diese Veränderung noch genauere Farbwerte ermittelt wurden.

Die Methode: 0,4 ccm Serum werden im Reagenzglas unter vorsichtigem Schütteln mit 10 ccm einer 5%igen Trichloressigsäurelösung versetzt. Nachdem das Röhrchen genau 20 Minuten in kochendem Wasserbad erhitzt worden ist, wird es sofort in Eiswasser abgekühlt. Während des Erhitzens sind die Röhrchen mit einem durchbohrten Stopfen, durch den ein 20 cm langes Glasrohr, das als Kondensor dient, gesteckt ist - verschlossen. Das Hydrolysat wird filtriert. Von dem klaren Filtrat werden 1,5 ccm in ein Reagenzglas gebracht und 3 ccm Reagenz I hinzugefügt. Das Ganze wird 30 Minuten erhitzt und wiederum in Eiswasser abgekühlt.

Die entstandene Farblösung photometriert man im Photometer bei 530 m μ .

Zur Nulleinstellung des Photometers benutzt man eine Lösung, bestehend aus 1,5 ccm 5%iger Trichloressigsäurelösung und 3 ccm Reagenz I. Die zweite Kontrolle dient zur Ermittlung der Serumeigenfarbe, da sich die einzelnen Seren in der Stärke ihrer Eigenfarbe unterscheiden. Man nimmt also 1,5 ccm des klaren Filtrates und versetzt es mit 3 ccm Reagenz II. Bei Reagenz II fehlt das Diphenylamin, damit keine Farbe entsteht, die die Serumeigenfarbe überdeckt. Abgesehen von dem fehlenden Diphenylamin entspricht die Zusammensetzung des R II derjenigen des R I. Der Extinktionswert der Eigenfarbe wird von dem der Diphenylaminreaktion subtrahiert. Die Farbintensität der Lösung mißt man in einem Spektrophotometer bei 530 m μ .

III. DIE EIWEISSGEBUNDENEN, FARBGEBUNDENEN KOHLEHYDRATKOMPLEXE

1) Kohlehydratische Eiweiße

a) Definition: Im Serum von Carcinom- und Rheumakranken ist - wie oben schon erwähnt - ein erhöhter Kohlehydratgehalt festzustellen. Diese Kohlehydrate sind an Proteine gebunden. Eiweißkörper mit einem Kohlehydratgehalt von 8 - 20 % werden als Glykoproteide definiert. (1) Die Glykoproteide sind als Gruppe schwer zu übersehen, da ihre Kohlehydratkomponenten verschieden sind. Zudem ist die Zusammensetzung einzelner Glykoproteide immer noch nicht genau bekannt. Sie haben mit der im Blut vorkommenden Glucose nichts zu tun. Jedenfalls wird vermutet, daß die

Glykoproteide den mit DPA in Farbverbindung tretenden Komplex enthalten. (5)

b) Einteilung: Manche Glykoproteide sind von schleimiger Beschaffenheit. Sie kommen in Sekreten der Drüsen von Schleimhäuten vor, man findet sie im Glaskörper des Auges, in den Gelenkflüssigkeiten usw. Man faßt sie unter dem Begriff Mucine zusammen. (6)

In unserem Fall sind die nicht schleimartigen Glykoproteide von Interesse. Sie werden auch als Mucoide bezeichnet. (6) Je nach dem Status eines Carcinoms oder einer entzündlichen Erkrankung findet man sie vermehrt im Serum vor. Im Wasser sind sie gut löslich. Außerdem zeichnen sie sich durch eine hohe Thermostabilität aus. (1) Bei einem Teil von ihnen sind die Kohlehydratkomplexe fest mit dem Eiweiß verbunden. In anderen Fällen dissoziieren diese Eiweißkörper leicht in Eiweiß- und Kohlehydratkomponente. Die Kohlehydratkomponenten werden als Mucopolysaccharide bezeichnet. (6)

c) Darstellungsmethode eines Glykoproteins (Mucoprotein): Aufgrund der hohen Thermostabilität und der guten Lösungsfähigkeit ist es äußerst schwer, diese schwer zugänglichen Fraktionen zu isolieren und darzustellen. Der hohe Mucopolysaccharidgehalt der nicht leicht zu fällenden Fraktionen läßt vermuten, daß hier der mit DPA reagierende unbekannte Molekülkomplex zu suchen ist. (5)

Schon bei früheren Untersuchungen stellten sich im Serum, nach Anwendung der verschiedensten Methoden, an Eiweiß gebundene, kohlehydratreiche Serumsfraktionen dar. Hewitt isolierte mit Hilfe der Aussalzungsmethode, neben kohlehydratarmen Albuminen, ein kohlehydratreiches "Seroglykoid und Globoglykoid". Hewitt, Remington und van der Ende (1940) erlangten aus Pferdeserum durch Hitzekoagulation bei saurem PH-Wert, nachdem sie vorher die anderen Eiweißkörper ausgefällt hatten, einen kohlehydratreichen Eiweißkomplex, das "Seromuroid". (1) Winzler und Burk gewannen aus Rattenblut einen von Sulfosalicylsäurefiltraten nicht dialysierbaren Stoff. (7) Er war hitzestabil und wurde von Sulfosalicylsäure und Ammoniumsulfat nicht ausgefällt. Die Autoren benannten den Stoff als "Proteose". Meyer (8) fällte den selben Stoff mit Alkohol aus Sulfosalicylsäurefiltraten von Pferdeserum aus. Bei weiterer Untersuchung dieser Substanz stellte er einen hohen Gehalt an Schwefel, Kohlehydrat und Glukosamin fest. Ratten- und Pferdeblut Proteose hatten den hohen Kohlehydrat- und den niederen N-Gehalt gemeinsam. (9) Winzler, Mehl, Devor und Smyth (9) stellten in ihren Untersuchungen eine noch reinere Substanz dar. Sie versetzten Blutserum mit 6%iger Trichloressig-

säure, wobei die Plasmaeiweiße ausgefällt werden. Die hitzestabilen, kohlehydratreichen Substanzen bleiben im Trichloressigsäurefiltrat in Lösung. Mit starker Phosphorsäure und Trichloressigsäure (10) (Burstein-Methode) werden diese mucoiden Substanzen gewonnen. Der Eiweißgehalt dieses Mucoproteins, von obengenannten Autoren untersucht, ergibt sich aus der quantitativen Biuretreaktion, (11) der Kohlehydratgehalt aus der Orcinolreaktion, (12) und der Thyrosingehalt wird mit dem Phenolreagenz nach Folin (13) ermittelt.

Dieses Mucoprotein liegt im Serum von Carcinomkranken in erhöhter Menge vor, was durch die erhöhten Tyrosin-, Kohlehydrat- und Proteinwerte erwiesen ist. (9)

d) Natur und Bestandteile dieser schwer fällbaren Fraktionen, soweit sie erforscht sind:

Der niedere Stickstoffgehalt des Mucoproteins erklärt sich aus dem hohen Kohlehydrat-, Glukosamin- und Lipoidgehalt (8), sowie dem verhältnismäßig niederen Proteinanteil. (9) Daß es sich bei den Kohlehydratanteilen des Mucoproteins um Hexosen und nicht um Pentosen handelt, wird mit Hilfe der Orcinolmethode nach Sorenson Haugaard (12) bestimmt. Die dabei entstehenden Farbverbindungen werden im Colorimeter gemessen. (9) Man erhält Meßwerte von 420 m μ und 540 m μ . Daraus ist zu schließen, daß es sich um ein Gemisch von Galaktose und Manose handelt. (9)

Der Hexosaminanteil wird mit Hilfe der Remington'schen Acetylacetonmethode bestimmt. (14)

Elektrophoretische Untersuchungen der auf die beschriebene Art dargestellten Substanz ergaben drei Komponenten, deren I. P., im Vergleich zu den Plasmaproteinen, erniedrigt war. (9) Zwar war nicht anzunehmen, daß alle drei Komponenten einen gleich hohen Kohlehydratgehalt besitzen. Trotzdem ließen die gleichen Eigenschaften, was Löslichkeit, Hitzestabilität und I. P. anbetrifft, darauf schließen, daß es sich um Mucoproteine handelt.

Chemische Zusammensetzung und physiochemische Eigenschaften dieser mucoidartigen Komponenten unterscheiden sich von den anderen Plasmaproteinen. Weimer, Mehl und Winzler (1950) gelang ebenfalls die Anskristallisation eines Mucoproteins. Außer dem Galaktose-Mannosegehalt von 16,4% und einem Hexosamingehalt von 11,9% konnten Phosphorlipide und Sulfatschwefel festgestellt werden. Das von Zannetti, Remington und Bywaters dargestellte "Seromucoid", Hewitts Globoglykoid und die von Meyer aus

Pferdeserum isolierte Substanz sind dem Winzler'schen Mucoprotein ähnlich. Der geringere Kohlehydratanteil ist dadurch zu erklären, daß bei der Isolierung nicht sämtliche Plasmaproteine mitgefällt wurden (Bergstermann).

2) Mucopolysaccharide

Sowohl in den Interstitien fester Gewebe als auch im Blutplasma sind erhebliche Mengen von Mucopolysacchariden vorhanden. Während die Mucopolysaccharide fester Gewebe visköse Gallerten bilden, sind die im Blutplasma enthaltenen Stoffe an die im Blut suspendierten Teilchen der Serumproteine gebunden. (15) Im ersten Fall handelt es sich um saure, im zweiten Fall um neutrale Mucopolysaccharide. Galaktose, Mannose, und Glucosamin sind in einem Komplex zusammengekettet. Diese Komplexe können neben den Zuckern und dem acetylierten Glucosamin auch noch Uronsäuren (meist Glukuronsäuren), Schwefelsäure oder Phosphorsäure enthalten. Je nach An- oder Abwesenheit von Säure handelt es sich dabei um solche mit saurem bzw. basischem Charakter. (6)

a) Die sauren Mucopolysaccharide:

Chondroitinschwefelsäure, Mucoitinschwefelsäure, Hyaluronsäure, Polysaccharidsäure aus Submaxillarismucin und Heparin sind saure Mucopolysaccharide. Hyaluron- und Chondroitinschwefelsäure in polymerisiertem Zustand bilden die Interzellulärsubstanz. Der Polymerisationsgrad dieser sauren Mucopolysaccharide und die Bindung an die Eiweiße sind von den Hyaluronidasen abhängig. (6)

b) Die neutralen Mucopolysaccharide:

Neutrale Mucopolysaccharide sind die blutgruppenspezifischen Substanzen, die Kohlehydratkomponenten des Gonadotropins aus dem Harn von Schwangeren, die des Cornea und Ovomucoide, und die Kohlehydratkomponenten der Serummucoide. (6) Über den strukturellen Aufbau der neutralen Mucopolysaccharide ist noch wenig bekannt. Man findet in vielen Eiweißkörpern Komplexe aus Glukosaminodimannose oder Glukosaminodigalaktose. Im Mucoprotein ist wahrscheinlich ein Galakto-mannose-acetylhexosamin enthalten. (6) Bei den üblichen Untersuchungsmethoden werden nur die einfachen Zucker und nicht die Polysaccharidkomplexe erfaßt, da bei der Bestimmung das Molekül zerstört wird.

c) Vermehrt auftretende Mucopolysaccharide:

Wie schon erwähnt, ist bei Carcinomkranken und bei Patienten, die von fieberhaften, mit Gewebsdestruktionen einhergehenden Erkrankungen befallen sind, ein Anstieg der mucoiden Substanzen und ein erhöhter Mucopolysaccharidgehalt im Blutserum festzustellen. Dieser Zustand beruht auf einer allgemeinen Abnormalität im intermediären Stoffwechsel. Durch Untersuchungen von Bergstermann, Südhoff und Kellner ist nachgewiesen, daß in diesen Seren Mucopolysaccharidwerte enthalten sind, die im Vergleich zu Seren von Gesunden eine starke Vermehrung aufweisen. Hochactive exsudative Lungentuberkulose und tuberkulose Meningitis im frischen Stadium weisen, nach Untersuchungen von Südhoff und Kellner, eine erhebliche Zunahme eiweißgebundener Polysaccharide auf. Dagegen können bei älteren, produktiv umgewandelten cirrhotischen Prozessen keine erhöhten Werte nachgewiesen werden. (16) Die gleichen Untersuchungsergebnisse liegen bei frischen, als auch bei chronischen Hepatitiden vor. In diesen Fällen entsprechen die Werte in keiner Weise der Schwere des klinischen Bildes. (16) Zusätzlich sei erwähnt, daß es bei Hepatitiden und Lebercirrhosen häufig zu einer Verminderung der kohlehydratreichen α_2 -Serumeiweißfraktion kommt, womit eine Abnahme des proteingebundenen Kohlehydrates verbunden sein könnte. (17)

Die höchsten Werte eiweißgebundener Polysaccharide finden sich nach Südhoff und Kellner im Serum von Patienten, die an bösartigen Neubildungen erkrankt sind.

Die von den erwähnten Autoren ermittelten Ergebnisse bei Bronchial - Carcinomen, Oesophagus-, Mamma- und Leber - Carcinomen, sowie bei Lymphosarkomen liegen eindeutig im pathologischen Bereich.

Fast ebenso hohe Werte ergeben die Untersuchungen in Fällen von aktiver chronischer Polyarthrit. (16)

d) Die Verteilung der Mucopolysaccharidanhäufungen unter pathologischen Bedingungen auf die einzelnen Fraktionen:

Bergstermann führte systematische Untersuchungen der Einzelfractionen durch. Er wandte dabei die von Grassmann und Hannig entwickelte Papierelektrophorese an, wobei Serumeiweiß quantitativ getrennt wird. Die Eiweißkörper werden in diesem Falle mit Trichloressigsäure gefällt, das Eiweiß mit der Biuret-methode (11) und die Hexosen mit der Orcinolmethode (12) bestimmt. Es kann als gesichert angesehen werden, daß alle Unterfraktionen des Serumei-

weißspektrums einen mehr oder weniger großen Prozentsatz proteingebundener Kohlehydrate in Form der neutralen Mucopolysaccharide in Bindung tragenden. Bei allen Erkrankungen, die zu einer Beanspruchung des Eiweißstoffwechsels führen, treten sie vermehrt auf. Die elektrophoretisch untersuchten Fraktionen enthalten nach Sary Mucopolysaccharide mit neutralen Hexosen und Acetylglukosamin. (18) Nach Untersuchungen des Autors findet man in manchen Fällen noch geringe Mengen von Hexuron und Schwefelsäuren an den Hexosen. Durch die zusätzlich erhaltenen elektronegativen Ladungen erhöht sich die anodische Wanderungsgeschwindigkeit der betroffenen Globulinmoleküle. Sary findet in seinen Untersuchungen eine gleichmäßige Verteilung der Mucopolysaccharide auf die Albumine und Globuline. (19)

Nach Untersuchungen von Blix, Tiselius und Svensson haben α - und β -Globuline gegenüber den anderen Globulinfraktionen einen höheren Gehalt an Hexosen und Glucosamin. (20)

Im Serum von Patienten, die an entzündlichen oder malignen Krankheiten leiden, findet Bergstermann signifikante Abweichungen und Verschiebungen.

Die Vermehrung der eiweißgebundenen Polysaccharide beträgt in einigen Fällen das Dreifache des Normalen und betrifft hauptsächlich die am schwersten fällbaren Fraktionen. In solchen Fällen kann ein Anstieg der Kohlehydrate des Albumins von 0,5 % auf 2 % registriert werden. (1) Infektionskrankheiten von hoher Akuität weisen im Anfangsstadium in den schwer fällbaren Fraktionen eine Kohlehydratanreicherung auf. Mit zunehmender Antikörperbildung wird eine Verlagerung auf die α_2 -, β - und evtl. auch γ -Globuline registriert.

e) Die Auswirkung auf die Hitzekoagulationsschwelle des Serums:

Seren, in denen die Mucopolysaccharidanreicherung die schwer fällbaren Fraktionen betrifft, besitzen eine erhöhte Hitzekoagulationsschwelle und verursachen eine Linksverschiebung des Weltmannbandes. Die zur Koagulation führende Grenzkonzentration von CaCl_2 ist der Gradmesser für die Hitzestabilität.

Bei chronisch entzündlichen Erkrankungen liegt, trotz des einwandfrei erhöhten Mucopolysaccharidspiegels, im Serum eine niedrigere Hitzekoagulationsschwelle vor. Das Weltmannband ist in diesem Falle verschleiert, d. h. die Ausflockung beginnt in einer CaCl_2 -Konzentration von 0,4 %, ist aber erst

bei 0,6 oder 0,7 % hundertprozentig. (1) Wuhrmann und Wunderly (1947) machen für die Erhöhung bzw. Erniedrigung der Hitzekoagulationsschwelle zwei Faktoren, die sich einander überlagern können, verantwortlich. (1) Nach Untersuchungen dieser Autoren weisen chronische Erkrankungen eine Vermehrung der γ -Globuline und eine erniedrigte Hitzekoagulationsschwelle auf. Akute maligne oder infektiöse Erkrankungen dagegen zeichnen sich durch erhöhte Albumin-, α_1 - und β -Globulinwerte mit entsprechender Mucopolysaccharidanreicherung aus.

In diesen Fällen, in denen es sich um einen Zusammenbruch der körperlichen Abwehrmaßnahmen handelt, wird eine erhöhte Hitzekoagulationsschwelle festgestellt (Bergstermann). γ -Globuline sind leichter auszufällen. Die verminderte Stabilität erklärt sich aus der Molekülform und der Verteilung der polaren Gruppen. Sie heben nicht nur die koagulationsschwellenerhöhende Wirkung der Mucopolysaccharide auf, die in anderen Fraktionen vermehrt auftreten, sondern erniedrigen sie und verursachen eine Rechtsverschiebung und Verschleierung des Weltmannbandes. (1)

f) Beziehungen der vermehrten Mucopolysaccharide zur Blutsenkung:

Sary (Bodur und Batiyok) (21), stellen eine Beziehung zwischen beschleunigter BSG und der Mucopolysaccharidvermehrung im Serum her. Sie sehen ihre Beobachtung in folgendem Modellversuch bestätigt.

Setzt man zu normalem Blutplasma Polysaccharide zu, so erhöht sich die Sedimentationsgeschwindigkeit. (22) Meyer (1945) erzielte mit hochpolymerisiertem Hyaluronsäuren dasselbe Ergebnis. (1) Einen weiteren Hinweis auf die mögliche Korrelation liefert der Heilmeyer'sche Versuch. (23) Bei diesem Versuch werden Tuberkulosepatienten mit TBI behandelt. Es ergibt sich daraus eine Verringerung der Senkungsgeschwindigkeit. Nicht das verminderte Vorkommen von Fibrinogen, sondern die Verringerung der Mucopolysaccharide soll die Ursache sein. Diese Verringerung manifestiert sich im Elektrophoresediagramm in einer Verkleinerung der Globulinzacke. (1) Andere Autoren bestreiten diesen Zusammenhang, da ein zu hoher Prozentsatz ihrer Untersuchungsergebnisse neben einwandfrei erhöhtem Serumpolysaccharidgehalt normale BSG aufweisen. (1; 16)

g) Annahmen über die Herkunft der vermehrt auftretenden Mucopolysaccharide:

Die Ursachen der Mucopolysaccharidvermehrung im Serum sind, wie schon erwähnt, Krankheiten, die mit einem verstärkten Eiweißstoffwechsel und massiven Gewebszerstörungen einhergehen. Es besteht nun die Frage nach der Herkunft der Mucopolysaccharide. Es ist auffällig, daß bei schweren Hepatitiden und Lebercirrhosen, also auch Erkrankungen mit verstärktem Eiweißstoffwechsel und Gewebszerstörung, eine Abnahme der Mucopolysaccharide festgestellt wird (Bergstermann). Manche Autoren glauben aufgrund dieser Tatsache, daß die Leber die Bildung dieser eiweißgebundenen Mucopolysaccharide steuert. Sie würde also als Schutzreaktion bei den entsprechenden Erkrankungen das vermehrte Auftreten der Glykoproteide verursachen. Andere Autoren vertreten die Annahme, daß die Vermehrung der im Blutserum auftretenden Mucopolysaccharide aus einer vermehrten Einschwemmung von depolymerisierten Grundsubstanzbausteinen in die Blutbahn resultieren. (24) Braun-Falco findet bei malignem Melanom stark erhöhte Werte von proteingebundenem Glukosamin und Hexosen, die er für depolymerisierte Grundsubstanzbausteine hält. (25) Der Zusammenhang zwischen destruktiven Gewebsvorgängen und erhöhtem Mucopolysaccharidspiegel im Blut steht fest. Die Frage, ob nun die Leber oder die depolymerisierte Grundsubstanz für die erhöhten Werte im Serum verantwortlich sind, bleibt offen.

3) Aminozyuckerkomplexe (Neuraminsäuren)

a) Darstellung: Ebenso ist die Frage über die Art und Struktur des mit DPA reagierenden Komplexes noch immer nicht gelöst. Die Parallelität zwischen dem Anwachsen der Glykoproteide im Serum und der Intensität der Farb-reaktion weist darauf hin, daß der Komplex unter den Glykoproteiden zu suchen ist. Vergleichsuntersuchungen im Spektrometer bei Patientenserum, mit denen der DPA-Test ausgeführt wurde, und gereinigter Mucoprotein-Lösung ergaben übereinstimmend ein Absorptionsband bei 530 m μ . (5) Diese Untersuchungen sind zwar geeignet, die erhöhte bzw. verminderte Abwesenheit des fraglichen Stoffes nachzuweisen, tragen aber nicht zu einer Identifizierung bei. Klenk und Mitarbeiter kamen vielleicht, was die Identifizierung der farbgebenden Substanz anbetrifft, einen Schritt weiter. Der Autor konnte aus Gangliosiden einen Aminosäurezyuckerkomplex isolieren. Ganglioside sind bei familiäre amaurotischer Idiotie und bei Tay Sachs Erkrankungen in der grauen Hirnsubstanz vermehrt. (26) Sowohl bei Patienten als auch bei Ge-

sunden konnte eine Methoxyneuraminsäure isoliert werden. (27, 28, 29, 30) Dieser Komplex war für charakteristische Farbreaktionen der Ganglioside verantwortlich. Bei weiteren Untersuchungen stellte sich heraus, daß dieser Komplex auch in Verbindung mit Lipoiden und besonders mit Serumproteinen vorkommt. Er konnte in Submaxillarismucin (31, 32), Milch (33), Urin (34, 35), Liquor (36), im Drüsengewebe (37) und im Blutserum (38 - 41) gefunden werden.

Zur quantitativen Bestimmung der Neuraminsäure können drei verschiedene colorimetrische Reaktionen angewandt werden:

1. die DPA - Reaktion (42, 5, 43),
2. die Tryptophan Trichloressigsäurereaktion (42, 44) und
3. die Orcinolreaktion nach Bial. (28, 41)

In allen drei Fällen bieten sich in Anwesenheit der 2 Desoxyhexosestruktur, die ein Teil des Neuraminsäuremoleküls ist, die charakteristischen Reaktionen. Volk, Aronson und Saifer führten quantitative Bestimmungen der Neuraminsäure im Serum durch. (46)

Zur Ausführung wandten sie die DPA - Reaktion an, zu der sie eine eigene Methode entwickelten. Die Untersuchungen zeichnen sich durch ihre Genauigkeit aus, was sich in Wiederholungsversuchen herausstellt. Der Gesamtgehalt der Neuraminsäure im Serum ist bei Erkrankungen, die mit einem allgemeinen Schwächungszustand einhergehen, höher als bei familiärer amaurotischer Idiotie oder Tay Sachs-Fällen. Beschränkt man sich allerdings auf den Neuraminsäuregehalt der Globuline, so liegen die Werte bei erwähnten neurologischen Erkrankungen doch höher über der Norm als bei den Fällen nicht neurologischen Ursprungs. Aufschluß über die Verteilung des Neuramins auf die einzelnen Proteinfractionen erhält man mit Hilfe der von Saifer und Mitarbeiter dargestellten und vereinfachten Diphenylaminprozedur.

b) Vorkommen und Bedeutung:

Neuraminsäure ist ein Bestandteil von Glykolipoiden und Glykoproteinen. Glykoproteine sind in allen Serumweißfraktionen vertreten, was sowohl durch die Untersuchungen von Greenspan (47) als auch von Volk, Aronson und Saifer (46) nachgewiesen ist.

Bei den entsprechenden Erkrankungen treten sie nicht nur vermehrt auf, die relativen Konzentrationen in den einzelnen Fraktionen sind außerdem noch gegeneinander verschoben. Die Wanderungsgeschwindigkeit der Glykoproteine entspricht der Geschwindigkeit der α_1 , α_2 Globuline.

Volk, Aronson und Saifer stellen aufgrund ihrer Untersuchungen das Vorkommen der Neuraminsäure in allen Eiweißfraktionen fest. (46) Der Hauptanteil entfällt, entsprechend den Glykoproteinen, auf die α - und β -Globuline. Man untersuchte im Spektrometer reines kristallisiertes Neuramin, in Lösung gebracht, im Vergleich zu einem Serum, mit dem die DPA - Reaktion ausgeführt wurde. Es ergab sich dasselbe Absorptionsmaximum bei 530 m μ . (39, 40, 41, 42)

Mucoproteine weisen auch dasselbe Absorptionsmaximum auf. Da alle Glykoproteine Neuraminsäure enthalten, ist anzunehmen, daß die Neuraminsäure für die übereinstimmenden Absorptionsmaxima bei 530 m μ verantwortlich ist. (46) Auf Grund dieser Tatsachen könnte die Hypothese vertreten werden, in der Neuraminsäure den mit DPA farbgebenden Komplex gefunden zu haben. Bei destruktiven Gewebsvorgängen tritt sie parallel mit den Glykoproteinen vermehrt auf. Ihr vermehrtes Vorkommen spiegelt sich in den elektrophoretisch bestimmten α - und β -Globulinen wieder. (48) Die Möglichkeit, daß ein anderer Komplex die Reaktion verursacht, kann nicht ausgeschlossen werden.

IV. ERGEBNISSE DES DPA - TESTES BEI INTERNEN ERKRANKUNGEN UND CARCINOMEN

1) bei Carcinomen und internen Erkrankungen:

Niazi und State untersuchten vergleichsweise Seren von Gesunden und Patienten, die an Carcinomen, Bronchiektasen, Rheumafieber, subakuter bakterieller Endocarditis litten. (4) In allen Fällen ergab sich bei Anwendung der DPA-Methode eine Violettfärbung des Serums, die naturgemäß bei den Patientenserum intensiver war.

Schon im Beginn einer malignen oder einer rheumatischen Erkrankung, auch bei Infarkten, konnte eine Intensivierung der Farbreaktion festgestellt werden. Bei benignen und nicht rheumatischen Prozessen glichen die Werte einem normalen Serum. Niazi und State hielten die Diphenylaminreaktion für nicht ganz verlässlich, da bei ihren Untersuchungen von 27 malignen Fällen nur 24 mit Hilfe der Methode diagnostiziert wurden.

2) bei leukämischen Erkrankungen:

Waldo und Zipf (49) untersuchten mit gleicher Methode Seren von Patienten, die an Leukämie litten. Um festzustellen, ob die bei diesen Krankheiten sich

ergebenden Werte von Werten anderer Erkrankungen zu unterscheiden sind, bildeten sie vier Gruppen. Die erste Gruppe wird aus gesunden Erwachsenen gebildet, die zweite Gruppe aus Patienten mit benignen Prozessen und die dritte Gruppe aus Patienten mit malignen Prozessen. In der vierten Gruppe waren die an Leukämie leidenden Patienten zusammengefaßt. Angewandt wurde die von Ayala und Mitarbeitern aufgestellte Methode der Diphenylaminreaktion. (6) Die Farbwerte ermittelte man im Spektrophotometer bei 530 m μ .

Die Werte der beiden ersten Gruppen lagen in der Norm, in der dritten Gruppe lagen sie um 120 Farbe - Einheiten höher als in den beiden ersten, und in der vierten Gruppe um 78 Farbe - Einheiten höher als in der dritten. Der Unterschied war also groß genug, um Erkrankungen leukämischen Charakters von Carcinomen und rheumatischen Erkrankungen zu unterscheiden.

3) bei rheumatischen Erkrankungen:

Ayala, Moore und Hess untersuchten, mit Hilfe der von ihnen vereinfachten Methode, Seren von Rheumakranken. (5) Bei primär chronischen Polyarthritiden lagen 82,8 % der Werte, bei sekundär chronischen Polyarthritiden 41,7 % über der Norm. In Fällen geringerer Prozeßaktivität lagen die Werte im normalen Bereich. Blutsenkungsgeschwindigkeit und Intensität der Farbreaktion gingen parallel und waren je nach dem Grad der Prozeßaktivität erhöht bzw. normal.

Coburn, Moore und Haninger setzten die Versuche nach der von Ayala, Moore und Hess angegebenen Methode bei Kindern mit rheumatischem Fieber fort. (50)

Sie bildeten drei Gruppen:

Die erste Gruppe bestand aus Kindern mit akutem, rheumatischem Fieber, die zweite Gruppe setzte sich praktisch aus denselben Fällen zusammen, nur wurde sie im Gegensatz zur Ersten mit streng therapeutischen Maßnahmen behandelt.

Die dritte Gruppe setzte sich aus Kindern mit inaktiven, rheumatischen Prozessen zusammen. Diese Kinder besuchten weiterhin die Schule und wurden nicht behandelt.

Die höchsten Werte fanden sich in der ersten Gruppe, geringere Werte in der zweiten- und Normalwerte in der dritten Gruppe. Blutsenkungsgeschwindigkeit und DPA - Werte liefen im akuten Stadium parallel. Beim Zurückgehen des Prozesses blieben die Werte noch eine Zeit lang erhöht, um langsam wieder in das normale Bereich abzusinken. 24 Stunden nach Beginn einer Attacke

erreichte die Konzentration der farbgebenden Substanz ihren Höhepunkt.

Gamp und Bopp wählten zur Bestimmung des Entzündungsgrades bei chronischen Polyarthritiden ebenfalls die Diphenylaminreaktion unter Anwendung der Methode nach Ayala, Moore und Hess. (5)

Bei Serumuntersuchungen von Patienten mit primär chronischer Polyarthritidis fiel die DPA - Reaktion in 81 % der Fälle pathologisch aus. Es wurden Werte bis zu 490 Farbe - Einheiten festgestellt. Bei der sekundär chronischen Polyarthritidis lagen nur 50 % der Werte im pathologischen Bereich. Die Erklärung liegt darin, daß sich meistens mehrere Patienten dem schubweisen Verlauf der Krankheit entsprechend in Remission befanden. Die bei Morbus Bechterew ermittelten Werte lagen je nach Status der Erkrankung mehr oder weniger erhöht. Degenerative Gelenk- und Wirbelsäulenerkrankungen lieferten nur in 12 % der Fälle Ergebnisse, die noch gerade über der Norm lagen. Gamp sah Beziehungen zwischen der Glukosaminvermehrung, der Zunahme der α_1 - α_2 -Globuline, der erhöhten BSG und der Verkürzung des Weltmannbandes.

Milan Adam und Mitarbeiter führten 1956 DPA - Untersuchungen bei degenerativen Gelenkerkrankungen durch und erhielten Ergebnisse, die nicht nur beim rheumatischen Fieber erhöht waren, wie es auch Gamp feststellte, sondern auch bei rheumatischer Arthritis.

Im Gegensatz zu Gamp, hält der Autor die Veränderungen der Glukosaminmengen für nicht spezifisch genug, um sie mit den Werten, die sich bei der DPA - Reaktion ergeben, in Beziehung zu setzen.

V. DER DIPHENYLAMINTEST BEI DERMATOLESEN

Auch bei entzündlichen Dermatosen kommt es zu Polysaccharidvermehrungen in den einzelnen Fraktionen. (20) So war es naheliegend zu prüfen, ob auch mit Hilfe der Diphenylaminreaktion ein von der Norm abweichendes Verhalten nachzuweisen ist.

1) technische Probleme:

Die Methode des Testes entspricht der am Anfang der Arbeit beschriebenen nach Ayala, Moore und Hess. (5) Dasselbe trifft für die Zusammensetzung der Reagentien zu. Die Intensität der Farblösung wird im Eppendorf-Photo-

meter bei einer Wellenlänge von 546 m μ ermittelt. Beim Ansetzen der Reagentien ist darauf zu achten, daß Reagenz 1 und 2 in verschiedenen Gefäßen angesetzt werden, oder zumindest R 2 vor R 1 fertiggestellt wird. Bei einer 1%igen Diphenylaminlösung handelt es sich schon um eine überschüssige Konzentration. Kommt es also vor, daß einige Tropfen von R 1 oder Spuren von Diphenylamin in R 2 geraten, welches zur Ermittlung der Serum-eigenfarbe dient, so entsteht beim Erhitzen der betreffenden Lösung eine den Vollwerten fast gleichkommende blau-violette Färbung. Bei Reihenuntersuchungen mit dem Serum des gleichen Patienten war in einer Zeit von 14 Tagen ein langsames Abnehmen der Farbwerte festzustellen. Diphenylamin ist eine organische Verbindung, die mit der Zeit zerfällt. Die schwächer werdende Intensität der Färbung läßt sich aus der langsamen Zersetzung des DPA erklären. Es war also notwendig, das Reagenz von Zeit zu Zeit neu anzusetzen.

2) eigene Untersuchungsergebnisse im Vergleich zum Verhalten der protein-gebundenen Kohlehydrate im Serum bei Dermatosen:

In dieser Arbeit wurden Seren von ungefähr 100 Patienten der Hautklinik der Johannes Gutenberg - Universität Mainz mit Hilfe des DPA-Testes untersucht. Zu Beginn der Arbeit wurden Untersuchungen an Gesunden vorgenommen. Die Untersuchungsergebnisse lagen zwischen 180 und 190 Farbe - Einheiten.

Aus Vergleichsgründen werden papierelektrophoretische Serumkohlehydratbestimmungen einiger Dermatosen, die von Weber, Braun-Falco und Thaeßler (20) durchgeführt wurden, mit den in dieser Arbeit ermittelten DPA-Werten besprochen.

Dermatitis und Ekzemgruppe:

Hier konnte eine Beziehung zwischen der Höhe des Serumpolysaccharidgehaltes, der Prozeßaktivität und der Ausdehnung des Prozesses festgestellt werden. Der Totalpolysaccharidgehalt betrug nicht selten über 300 mg %. In manchen Fällen lagen nur Glukosamin bzw. Hexosen vermehrt vor. Eine Hypalbuminie wurde zwar nicht registriert, dagegen fand man Polysaccharidwerte der Albuminfraktion, die unter der Norm lagen. Die α_1 -Globulinfraktion war vermindert, der Kohlehydratanteil erhöht. Der Polysaccharidanteil der α_2 -Globulinfraktion zeigte im Verhältnis zu der entsprechenden Serum-eiweißfraktion eher erniedrigte Werte. Im β - und γ -Globulinbereich ergaben sich - trotz leichter Zunahme dieser Fraktion - normale Werte.

Der höchste, in eigenen Untersuchungen ermittelte Wert lag bei 250 Färbe - Einheiten, der niederste bei 190 F.E. Es wurden 17 Fälle getestet.

Die Ergebnisse:

Dermatitis:

223 F.E.	213 F.E.	247 F.E.
225 "	203 "	240 "
250 "	190 "	243 "
194 "	209 "	232 "
212 "	232 "	209 "
195 "	232 "	

Ekzem:

207 F.E.	196 F.E.	272 F.E.	244 F.E.
255 "	190 "	198 "	215 "
212 "	205 "	239 "	193 "
234 "	235 "	199 "	250 "
197 "	225 "	199 "	212 "

Die erhaltenen Werte unterlagen einer erheblichen Schwankungsbreite. In keinem Fall wurde ein pathologisches Ergebnis ermittelt.

Urticaria:

Hier ergaben die papierelektrophoretischen Untersuchungen erhöhte Hexosen- neben normalen Glukosaminwerten. Die Erhöhung des Kohlehydratspiegels be- trifft hauptsächlich die β -Globulinfraktion. Die albumingebundene Kohlehydrat- komponente war stark vermindert. Die Gesamtserumpolysaccharidwerte lagen zwischen 250 und 365 mg %. Zwei Seren von Urticaria - Patienten wurden mit dem DPA - Test untersucht. Die Werte lagen bei 203 und 223 F.E., das heißt, im Normbereich.

Psoriasis:

Die Autoren stellten kein einheitliches Verhalten der proteingebundenen Kohle- hydrate fest. In allen Fällen ließ sich eine erhebliche Schwankungsbreite er- kennen. Es konnte nicht festgestellt werden, daß bei der Totalpolysaccharid-

zunahme Hexosen- und Glukosaminwerte parallel und im gleichen Verhältnis zueinander ansteigen. Eine direkte Parallelität zwischen der Kohlehydratvermehrung und der Prozeßaktivität der Psoriasis lag ebenfalls nicht vor. Die Polysaccharidwerte der α_1 -Globuline schwankten von normalen - zu leicht erhöhten Werten, ebenso die Werte der α_2 -Globuline. Die γ -Globulinfraktion wies einen leicht erhöhten Kohlehydratspiegel auf. Die Vermehrung war mit der γ -Hyperglobulinämie nicht gleichsinnig. Die in eigenen Versuchen mit dem DPA - Test ermittelten Werte lagen nicht über 230 Färbeneinheiten. Der niedrigste Wert betrug 190 F. E. Es wurden 14 Fälle untersucht, die folgende Ergebnisse lieferten:

214 F. E.	200 F. E.	229 F. E.
190 "	229 "	196 "
205 "	215 "	195 "
190 "	212 "	208 "
180 "	208 "	

Pathologische Werte konnten in dieser Versuchsreihe nicht festgestellt werden.

Pemphigus:

Die elektrophoretischen Untersuchungen ergaben erhöhte Hexosenwerte. Der Glukosaminanteil lag nur gering über der Norm. Es bestand eine Hyper- α_2 -globulinämie mit gleichsinniger Kohlehydratvermehrung. Die Kohlehydratkomponente der α_1 -Globuline war leicht erhöht und die entsprechende Fraktion verringert. Die bestehende Hypalbuminämie wird durch die enorme Abnahme der an dieser Fraktion fixierten Kohlehydrate noch auffälliger. Die γ -Globulinfraktion mit dem dazugehörigen Kohlehydratspiegel ergab eine Konzentration die über der Norm lag, während die β -Globuline mit ihrem Kohlehydratanteil geringere Werte lieferten.

Es konnte in eigener Untersuchung nur ein Fall getestet werden, dessen Wert mit 196 Färbeneinheiten im Normbereich lag.

Erythematodes:

Die Polysaccharidwerte dieser Dermatoose waren insofern auffallend, als die Relation Hexose-Glukosamin gestört war. Bei normalen, bzw. leicht erhöhten Glukosaminwerten wurden niedere, fast unter der Norm liegende Hexosenwerte gefunden. Es lag eine Hypalbuminämie vor. Die dazu gehörige Kohlehydratkomponente war, ebenso wie bei den mengenmäßig normal vorhandenen

α -Globulinen, leicht verringert. Der Kohlehydratanteil der β - und γ -Globuline lag bei einer bestehenden δ -Hyperglobulinämie über der Norm. Die Totalpolysaccharidwerte schwankten zwischen 122 und 365 mg %. Der mit dem DPA - Test ermittelte höchste Wert beträgt 252 Färbereinheiten, der niedrigste 225 F.E.

Es wurden 5 Fälle untersucht.

Die Ergebnisse:	250 F. E.	225 F. E.
	235 "	252 "
	225 "	

Die Werte liegen, wenn auch gegenüber anderen Untersuchungsergebnissen etwas erhöht, nicht im pathologischen Bereich.

Lichen ruber:

Der Totalpolysaccharidgehalt ist bei dieser Erkrankung normal. Neben einer Hypalbuminämie mit gleichsinniger Verminderung der entsprechenden Kohlehydrate findet sich eine normale α_1 -Globulinfraktion mit normalen Kohlehydratgehalt, eine etwas vermehrte α_2 -Globulinfraktion mit deutlich erniedrigtem Polysaccharidspiegel und eine mäßig erhöhte γ -Globulinfraktion mit normalen Polysaccharidwerten.

Auch hier konnte in eigener Untersuchung nur ein Fall getestet werden. Das Ergebnis von 250 Färbereinheiten entsprach auch in diesem Fall einem Normalwert.

Weiterhin wurden 65 Seren mit verschiedenen anderen Dermatosen untersucht. Dabei erhielten wir folgende Resultate:

Neurodermitis:

180 F. E.	192 F. E.	215 F. E.	235 F. E.
-----------	-----------	-----------	-----------

Erythrodermie:

272 F. E.

Erysipel:

242 F. E.	242 F. E.	238 F. E.
-----------	-----------	-----------

Furunkulose:

225 F. E.

Decubitus:

232 F.E.

Ulcus cruris:

228 F.E.

230 F.E.

208 F.E.

Dermatomyositis:

190 F.E.

251 F.E.

Dysproteinaemie:

263 F.E.

284 F.E.

Epididymidis gonorrhoeica:

280 F.E.

Dyshidrosis:

190 F.E.

191 F.E.

234 F.E.

215 F.E.

190 "

203 "

236 "

190 "

Erythema induratum:

236 F.E.

Lupus vulgaris:

198 F.E.

196 F.E.

Lues latens:

180 F.E.

180 F.E.

180 F.E.

238 F.E.

Naevus verrucosus pigmentosus:

191 F.E.

Akne vulgaris:

193 F.E.

210 F.E.

197 F.E.

190 F.E.

Mykosis fungoides:

250 F.E.

230 F.E.

Basaliom:

242 F.E.

214 F.E.

226 F.E.

243 F.E.

Trichophytie:

233 F.E.

VI. DISKUSSION

Neoplasmatistische und entzündliche Prozesse des Organismus, die mit einer Depolymerisation der Grundsubstanz einhergehen, weisen im Blutserum eine Vermehrung der polysaccharidreichen Eiweißfraktionen auf. Veränderungen dieser Art können, neben anderen Untersuchungsmethoden, bis zu einem gewissen Grade mit Hilfe des Diphenylamin - Reagenzes nach Dische festgestellt werden.

Die betreffenden Autoren (4, 48, 5, 49, 50, 51) fanden in ihren Untersuchungen Farbwerte, die in allen Fällen über 300 Färbeneinheiten betragen und somit im pathologischen Bereich lagen.

Auch bei den verschiedenen Dermatosen entzündlicher Natur kommt es zu einem Abbau der Grundsubstanz. Von Weber, Braun-Falco und Thaesler angestellte elektrophoretische Serumuntersuchungen lassen bei einer Reihe von Dermatosen eine Erhöhung des Gesamtpolysaccharidgehaltes im Serum gegenüber der Norm erkennen. (20)

Aus diesen Gründen war es naheliegend, der Frage nachzugehen, ob die bei Dermatosen auftretenden Veränderungen der Cutis mit Hilfe des DPA - Testes zu erfassen sind. Ungefähr 100 Seren von Patienten der Hautklinik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz wurden in eigenen Untersuchungen getestet. Wie aus den beschriebenen Ergebnissen hervorgeht, konnten in keinem Fall Werte, die außerhalb der Grenze des Normalen lagen, festgestellt werden. Der Grund für die nicht erhöhten Untersuchungswerte könnte darin liegen, daß die morphologischen Veränderungen und die Akuität der Entzündungen von geringerer Intensität sind als es zum Beispiel bei einem metastasie-

renden Carcinom oder bei Arthritiden verschiedener Stadien der Fall ist. Rheumatische Erkrankungen schaffen durch die Hypersensibilisierung des Körpers bedingte, ubiquitär auftretende Entzündungen. Die damit verbundenen Gewebsdestruktionen übertreffen in ihrem Umfang und ihrer Intensität das Ausmaß der, durch Dermatosen verursachten morphologischen Veränderungen, die in diesem Fall untersucht wurden. Dasselbe kann man von eventuell mit Metastasen einhergehenden Tumoren behaupten, deren proteolytische Fermente (52) ausgedehnte Alterationen in der Grundsubstanz bedingen. (53) Die Totalpolysaccharidwerte bei Dermatosen liegen selten über 350 mg %. Das bedeutet, daß sie höchstens den doppelten Normalwert betragen. In den meisten Fällen findet man Werte zwischen 200 und 300 mg %. In einem Fall einer unspezifischen Epididymidis wurde bei elektrophoretischen Untersuchungen ein verhältnismäßig hoher Wert von 465 mg % festgestellt. Der mit dem DPA - Test ermittelte Farbwert lag mit 280 Färbeeinheiten gegenüber den anderen Werten relativ hoch, wenn auch nicht im pathologischen Bereich. Die Sedimentationsgeschwindigkeit der vorliegenden Fälle, aus Vergleichsgründen mitkontrolliert, war nur in einigen Fällen geringgradig erhöht. Die Tatsache, daß sämtliche Werte im Normalbereich lagen, ist aller Wahrscheinlichkeit nach darauf zurückzuführen, daß die Konzentration des mit DPA farbgebenden Komplexes nicht hoch genug ist, um eine bemerkenswerte Erhöhung des Farbwertes zu verursachen. Dabei ist zu beachten, daß die elektrophoretischen Untersuchungen von Weber, Braun-Falco und Thaesler bei verschiedenen Dermatosen auffällige Schwankungen der protein-gebundenen Kohlehydratkonzentrationen aufwiesen. Über die Natur des farbgebenden Stoffes können nur Vermutungen angestellt werden. Es ist naheliegend, die von Klenk isolierte Neuraminsäure als verantwortlichen Komplex anzusehen. Wie schon erwähnt, besitzen sowohl gereinigte Neuraminsäurelösung, gereinigte Mucoproteinlösung als auch Patientenserum, mit denen der DPA - Test ausgeführt wird, ein übereinstimmendes Absorptionsmaximum bei 530 m μ . Wenn dies der Fall ist, könnten die negativen Testergebnisse bei den untersuchten Dermatosen so verstanden werden, daß Neuraminsäure nicht vermehrt im Blutserum erscheint. Entsprechende Untersuchungen über das Verhalten der Neuraminsäure bei Dermatosen könnten vielleicht eine weitere Klärung der angeschnittenen Frage bringen.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigen sich mit der Frage des vermehrten Vorkommens eines Polysaccharidkomplexes im Blutserum bei Dermatosen, der mit Diphenylamin eine Farbverbindung eingeht.

Der einleitende Teil der Arbeit befaßt sich rückblickend mit der Entdeckung des, unter pathologischen Bedingungen erhöhten Serumpolysaccharidspiegels sowie den ersten Versuchen, den Erhöhungsgrad zu bestimmen.

Der anschließende Abschnitt enthält eine Ausführung über die Entwicklung des Diphenylamintestes.

Die darauf folgende Abhandlung enthält bisherige Kenntnisse über Definition, Darstellung, Zusammensetzung, Vorkommen und Eigenschaften der mit Diphenylamin farbgebenden eiweißgebundenen Kohlehydratkomplexe.

Es folgt eine Beschreibung der positiven Untersuchungsergebnisse verschiedenster Autoren, bei rheumatischen und malignen Erkrankungen.

Der daran anknüpfende Teil enthält eine Beschreibung der eigenen, mit Hilfe der Diphenylaminreaktion bei Dermatosen ermittelten Untersuchungsergebnisse.

Die Normalwerte liegen zwischen 180 und 190 Färbeeinheiten. Die Werte der Dermatitis - und Ekzemgruppe und die Untersuchungsergebnisse die sich bei Psoriasispatienten ergeben, liegen sämtlich unter 300 Färbeeinheiten und somit - trotz vermehrt vorhandener, eiweißgebundener Kohlehydrate - nicht im pathologischen Bereich.

Bemerkenswert ist, der bei Erythematodes festgestellte relativ hohe Wert von 252 Färbeeinheiten, obwohl die eiweißgebundenen Kohlehydrate im Serum vermindert sind (Weber, Braun-Falco, Thaesler).

Im Gegensatz dazu fanden sich bei Urticaria und Pemphigusfällen erniedrigte Werte.

Die höchsten Werte ergaben sich in einem Fall von Dysproteinaemie und einem Fall einer Epididymidis Gonorrhoea mit 280 und 284 Färbeeinheiten. Sie liegen dennoch, wie sämtliche anderen Untersuchungsergebnisse, im Normbereich. Abschließend wird die Bedeutung der Befunde kurz diskutiert.

LITERATURANGABEN

- (1) Bergstermann, H. : Ärztl. Forschg. 8, 377 (1954)
- (2) Dische, Z. : Mikrochemie 7, 33 (1929)
- (3) Rothenfusser, S. : Ch. C. II 934 (1909)
- (4) Niazi, S., u. D. State: Concer Res. 8, 653 (1948)
- (5) Ayala, W., L. V. Moore u. E. L. Hess: J. Clin. Invest. 30, 781 (1951)
- (6) Lehnartz, E. : Chem. Phys. 91, (1952)
- (7) Winzler, R. J., u. D. Burk: I. Nat. Cancer Inst. 4, 417 (1944)
- (8) Mayer, K. : Ztschr. f. physiol. Chem. 16, 275 (1942)
- (9) Winzler, R. J., u. A. W. Devor, J. W. Mehl, I. M. Smyth:
j. Clin. Invest. 27, 609, (1948)
- (10) Burstein, M. : J. de physiol. et de path. Gén. 35, 71 (1937)
- (11) Mehl, J. W. : J. Biol. Chem. 157, 173 (1945)
- (12) Sorenson, M., u. G. Haugaard: Biochem. Ztschr. 260, 247 (1933)
- (13) Folin, O. u. V. Ciocalten: J. Biol. Chem. 73, 627 (1927)
- (14) Remington, C. : Biochem. J. 34, 931 (1940)
- (15) Sary, Z. u. F. Bursa, O. Kaleoglu, M. Bilen: Med. Mschr. 8, 497,
(1953)
- (16) Südhoff, H. u. H. Kellner, Physiologie u. klinische Bedeutung kohle-
hydrathaltiger Körperstoffe, Basel 73 (1957)
- (17) Seibert, F. B., M. V. Seibert, A. J. Atno, H. W. Campbell:
J. Clin. Invest. 26, 90 (1947)
- (18) Sary, Z. u. M. Juvanidis: Biochem. Ztschr. 324, 206 (1953)
- (19) Sary, Z., F. Bursa u. M. Juvanidis: Bull. Fac. med. Istambul 16,
1311 (1953)
- (20) Weber, G., O. Braun-Falco u. G. Thaessler, Arch. Dermat. Syph. 198.
634 (1954)

- (21) Stary, Z., H. Bodur u. F. Batiyok; med. Wschr. 81, 1273 (1951)
- (22) Linzenmeier, G.: Pflügers Arch. 181, 169 (1920), 186, 272 (1921)
- (23) Heilmeyer, L.: Dtsch. med. Wschr. 74, 161 (1949)
- (24) Seibert, M. V., F. B. Seibert, A. R. Atno u. H. W. Campbell;
J. Clin. Invest. Cincinnati 26, 90 (1947)
- (25) Braun-Falco, O.: Dermatolog. Wschr. 17, 417 (1957)
- (26) Thannhauser, S. J.: The Lipidoses, N. York, (1950) Oxford University Press.
- (27) Klenk, E.: Ztsch. physiol. Chem. 268, 50, (1941)
- (28) Klenk, E., H. Langerbeins: Ztschr. physiol. Chem. 270, 185 (1942)
- (29) Klenk, E., Ber. dtsch. chem. Ges. 75B., 1632 (1942)
- (30) Klenk, E., Ztschr. physiol. Chem. 282, 84 (1947)
- (31) Klenk, E., K. Lauenstein: Ztschr. physiol. Chem. 291, 147 (1952)
- (32) Blix, G., E. Lindberg, L. Odin, L. Werner: Sialic. Acids, Nature 175, 340 (1955)
- (33) Hoover, J. R. E., G. A. Braun, P. Gyorgy: Arch. Biochem. 47, 216 (1953)
- (34) Chatagnon, C. u. P. Chatagnon: Compt. rend. Soc. biol. 148, 1765 (1954)
- (35) Anderson, A. J. u. N. F. MacLagan: Biochem. J. 59, 638 (1955)
- (36) Roboz, E. u. J. B. Murphy, W. C. Hess u. F. M. Forster: Proc. Soc. Exper. Biol. u. Med. 89, 691 (1955)
- (37) Trucco, R. E. u. R. Caputto: J. Biol. Chem. 206, 901 (1954)
- (38) Böhm, P., St. Dauber u. L. Baumeister: Klin. Wschr. 32, 289 (1954)
- (39) Chatagnon, C. u. P. Chatagnon: Compt. rend. Soc. biol. 148, 1226 (1954)
- (40) Odin, L.: Acta chem. scandinav. 9, 862 (1955)
- (41) Böhm, P. u. L. Baumeister: Ztschr. physiol. Chem. 300, 153 (1955)
- (42) Winzler, R. J.: Interscience Publishers: 2, 279 (1955)

- (43) Coburn, A. F. , R. C. Bates, J. W. Hahn und P. Murphy:
J. Chron. Dis. 3, 140 (1956)
- (44) Seibert, F. B. , Pfaff, M. L. und Seibert, M. V. :
Arch. Biochem. 18, 279 (1948)
- (45) Hess, E. L. , J. W. Hahn und W. Ayala: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 91,
528 (1956)
- (46) Volk, B. W. , S. M. Aronson u. A. Saifer: J. Lab. an Clin. Med. Vol.
50 N 1, 26 (1957)
- (47) Greenspan, E. M. : J. Mt. Sinai Hosp. 23, 172 (1956)
- (48) Waldo, A. L. u. R. E. Zipf : Experientia 10, 468 (1954)
- (49) Coburn, A. F. , L. V. Moore u. J. Haniger: Arch. intern. med. 92, 185
(1953)
- (50) Gamp, A. : Med. Klin. 51, 2146 (1955)
- (51) Adam, M. , J. Malecek, M. Kutova u. V. Maly: Ann. rheum. dis. 16,
69 (1957)
- (52) Braun-Falco, O. : Klin. Wschr. 35, 50 (1957)
- (53) Braun-Falco, O. : Dermat. Wschr. 135, 417 (1957)

Herrn Professor Dr. med. E. Keining, Direktor der hiesigen Universitäts-hautklinik - der mir die Möglichkeit gab, die notwendigen Versuche innerhalb der Laboratorien der Hautklinik der Johannes Gutenberg-Universität durchzuführen - bin ich zu großem Dank verpflichtet.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Privatdozent Dr. med. O. Braun-Falco, Oberarzt der hiesigen Universitätshautklinik, für die Überlassung des Themas der Dissertation sowie steten Rat bei der Ausführung der Arbeit.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. med. F. Salfeld für seine Hilfe, sowie allen, die mich bei der Ausführung der Arbeit unterstützt haben.

LEBENS LAUF

Am 12. Juli 1934 wurde ich als zweiter Sohn des Ingenieurs Fernand Goossens und seiner Ehefrau Maria, geborene Schen, in Bingen am Rhein geboren.

Nach vierjährigem Besuch der Grundschule trat ich im Mai 1947 in die humanistische Abteilung des Stephan George-Gymnasiums in Bingen ein.

Nach, im Frühjahr 1954, bestandener Reifeprüfung begann ich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz mein medizinisches Studium und bestand im Oktober 1956 die ärztliche Vorprüfung.

Außer einem einsemestrigen Studium an der Leopold Franzens-Universität in Innsbruck im Sommer-Semester 1958, studierte ich sämtliche Semester an der hiesigen Hochschule.

Ich bin nun im sechsten klinischen Semester und beabsichtige, im Sommer 1959 das Staatsexamen abzulegen.

GESAMTHERSTELLUNG:
DITTERS BÜRODIENST, MAINZ, Augustinerstraße 64-66



